

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig – Universität Gießen
Direktoren: Prof. H. J. Dengler – Prof. H. G. Lasch

DAS VERHALTEN DER THROMBOZYTENAGGREGATION
NACH ZUSATZ VON PLASMAERSATZSTOFFEN ZU
NORMALBLUT IN VITRO

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig – Universität Gießen

vorgelegt von
EGBERT WILLE
aus Schlüchtern/Hessen

Gießen 1971

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig – Universität Gießen
Direktoren: Prof. H. J. Dengler – Prof. H. G. Lasch

DAS VERHALTEN DER THROMBOZYTENAGGREGATION
NACH ZUSATZ VON PLASMAERSATZSTOFFEN ZU
NORMALBLUT IN VITRO

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig – Universität Gießen

vorgelegt von
EGBERT WILLE
aus Schlüchtern/Hessen

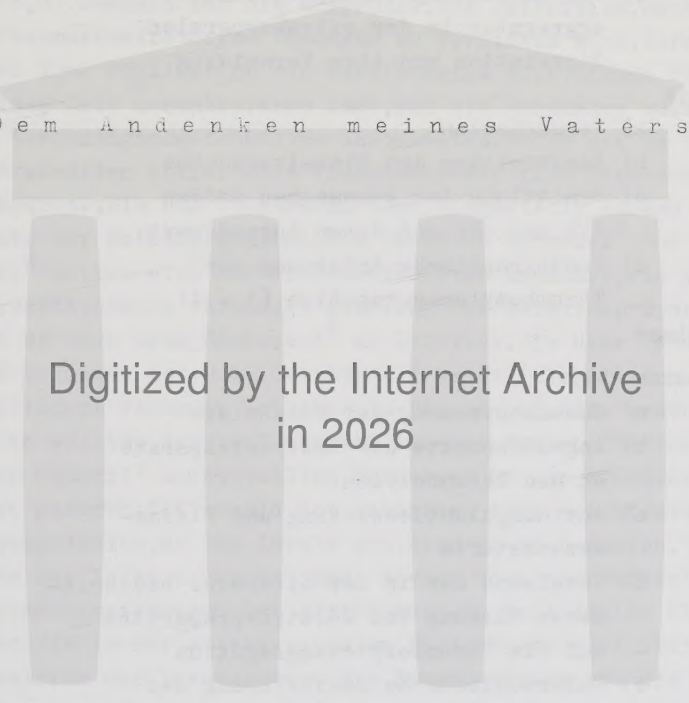
Gießen 1971



Dekan: Prof. Dr. med. H. C. Lasch

Referent: Prof. Dr. med. H. C. Lasch

Korreferent: Prof. Dr. med. L'Allemand



Dem Andenken meines Vaters

Digitized by the Internet Archive
in 2026

<u>Ü B E R S I C H T</u>	Seite
Einleitung	1
a) Vorteile der Anwendung von Plasmaer-	1
satzstoffen gegenüber Vollblut	
b) Verhalten der Thrombozyten in der	2
extrakorporalen Zirkulation	
c) Die Entstehung von Thrombozyten-	3
aggregaten in der extrakorporalen	
Zirkulation und ihre Vermeidung	
Methodik	5
a) Versuchsplan	5
b) Beschreibung des Einzelversuches	6
c) Ermittlung der gemessenen Größen	7
SVD und SFP und deren Aussagewert	
d) Photographische Erfassung der	10
Thrombozytenaggregation (1 - 4)	
Ergebnisse	12
Diskussion	31
a) Zusammenfassung der Ergebnisse	31
b) Angriffspunkte der Dextranpräparate	32
an den Thrombozyten	
c) Anticoagulantienwirkung und Plasma-	33
ersatzstoffe	
d) Vergleich der in der Literatur beschrie-	34
benen Wirkung von Gelatinepräparaten	
auf die Thrombozytenaggregation	
e) Unterschiedliche Beeinflussung der	35
Thrombozytenfunktion durch Anticoagu-	
lantien und künstliche Kolloide	
f) Besprechung der auf Seite 25 und 26 darge-	36
stellten Ergebnisse von Versuchen mit	
Endotoxin und Histamin	
Zusammenfassung	37
Anhang	38
andere Methoden	38
Literaturverzeichnis	40
Lebenslauf	43

E I N L E I T U N G

Blutersatzmittel werden heute häufig angewandt, um einen mittleren Blutverlust auszugleichen. Daneben benützt man sie aber auch bei chirurgischen Operationen zum Füllen von Herz-Lungen-Maschinen sowie in Hämodialysatoren, den sogenannten künstlichen Nieren. Und auch bei der isolierten Organperfusion wurden günstige Ergebnisse nach Verwendung von Blutersatzmitteln erzielt (5,9). Demnach ist die ursprüngliche Definition, nach der unter Plasmaersatzstoffen Lösungen zu verstehen sind, durch die sich bei i.v. Applikation ein vermindertes Blutvolumen für eine gewisse Zeit normalisieren läßt, auf die genannten zusätzlichen Anwendungsmöglichkeiten auszuweiten. Unter den am häufigsten verwendeten kolloidalen Plasmaersatzstoffen unterscheidet man Präparate, die aus Polysacchariden hergestellt werden und Präparate der Gelatinegruppen. Die Dextrane Macrodex^R und Rheomacrodex^R setzen sich aus Glucoseeinheiten zusammen, die in α -1,6-Glykosidbindung verknüpft sind. Bei den Gelatinepräparaten handelt es sich beim Haemaccel^R um Gelatine, die über Harnstoffbrücken vernetzt ist, beim Gelifundol^R um Oxypolygelatine oder um modifiziert flüssige Gelatine im Plasmagel^R. Alle erwähnten Präparate sollten der 1963 von der amerikanischen 'National Research Council' aufgestellten Forderung an ein Plasmaersatzpräparat genügen: "It should not interfere with hemostasis or blood coagulation, at the levels employed in transfusion." (1)

Da in den letzten Jahren immer wieder über das Auftreten von Gerinnungsstörungen bei der Verwendung kolloidaler Plasmaersatzstoffe in der extrakorporalen Zirkulation berichtet wurde, interessierte uns insbesondere die Frage, welcher Art die Veränderungen der Thrombozytenfunktion nach Zusatz von Plasmaersatzstoffen zum extrakorporal zirkulierenden Blut seien. Diese Frage stellte sich um so dringlicher, als in der Literatur auch wiederholt von günstigen Wirkungen der Plasmaersatzstoffe auf die Mikrozirkulation die Rede ist, und zwar in dem Sinne, daß es zu einem Offenhalten der Gefäße während der ischämischen Periode komme. So berichteten HITCHCOCK et alii 1964, daß Rheomacrodex unter Zusatz von Heparin und Procain wichtig für die erfolgreiche extrakorporale Aufbewahrung von Hunde- oder Baboonaffennieren in Hypothermie sei (5).

Gegenüber Vollblut hat die Verwendung von Plasmaersatzstoffen in der extrakorporalen Zirkulation u.a. den Vorteil, daß jene durch Vollbluttransfusion verursachten Gerinnungsstörungen vermieden werden. So wurde nach großen Bluttransfusionen ein Abfall der Thrombozyten sowie von Faktor V und VIII beschrieben (1). Die in Blutkonserven häufig zu findenden Zellaggregate und denaturierten Proteine erschweren wahrscheinlich bei 'low-flow'-Zuständen die Strömungsbedingungen in der Mikrozirkulation durch eine Steigerung der Viskosität. Über die Entstehung von Thrombozytenaggregaten in ACD-Blutkonserven berichteten H. NEUHOF, U. HAAS und andere. Die Mehrzahl der während großer Operationen zugeführten Blutkonserven sind jedoch ACD - stabilisiert!

Weitaus bekannter sind die durch wiederholte Bluttransfusionen verursachte Serumhepatitis und die immunologisch bedingte Unverträglichkeit einer Blutkonserve. Auch der für die Aufrechterhaltung der Kreislauffunktion vorrangige Volumeneffekt von Blutplasma kann ausbleiben, da die Plasmakomponente in etwa 20 % der Fälle die Blutbahn innerhalb einer Stunde verläßt (1). Dem steht der Vorteil einer steuerbaren Volumenwirkung durch Blutersatzstoffe gegenüber. Da die Volumenwirkung eines Blutersatzstoffes im wesentlichen von seiner Bindungskapazität für Wasser, der Ausscheidung durch die Nieren und der Volumenausgangslage des Patienten abhängt, wird man nach Abwägen dieser drei Größen ein geeignetes Blutersatzpräparat auswählen.

In der extrakorporalen Zirkulation stellt sich jedoch das zusätzliche Problem der Wirkung einzelner Blutersatzmittel auf die Blutgerinnung, insbesondere auf die Bildung von Thrombozytenaggregaten. So hat man bei unmittelbar postoperativ verstorbenen Patienten, die mit einer Herz-Lungen-Maschine perfundiert worden waren, Thrombozytenaggregate in den kleinen Körpergefäßen gefunden; dem entsprach ein intra operationem beobachteter Thrombozytenabfall im zirkulierenden Blut. M. SCHNORRER u. andere stellten eine Zunahme der Thrombopenie mit der Dauer der Perfusion fest (nach 38 Minuten um 19 %) (3). Die Ursache dürfte in der mechanischen Alteration einzelner Blutbestandteile durch das Pumpsystem der Herz-Lungen-Maschine zu suchen sein. Da fast alle Herz-lungen-Maschinen mit 'De-Bakey'-Rollerpumpen ausgerüstet

sind, werden z.B. Erythrozyten bei der Kompression des Schlauches jeweils starken Druck- und Scherkräften ausgesetzt, abhängig von der Zahl der Roller pro Pumpe und Minute. Turbulenz und Kavitation unter dem Roller erhöhen die Zahl hämolysierender Erythrozyten, deren freierwerdendes ADP die Aggregation der Thrombozyten beschleunigt. M. SCHNORRER u. andere glauben, daß Thrombozyten gegenüber der mechanischen Alteration anfälliger seien als Erythrozyten. Die Bildung von Plättchenaggregaten wird zusätzlich durch die innere Oberfläche des Systems gefördert, die als Netzungsfläche anzusehen ist.

Die Bedeutung der Plättchenaggregate für Störungen der Mikrozirkulation wird auch aus den Beziehungen zwischen Thrombozyten und Erythrozyten sichtbar: ohne adhäsive Plättchen im zirkulierenden Blut sind die Erythrozyten im Schock nur relativ locker aneinander gelagert (4,6). Versuche von YUTAKA SAKAI und J.F. LEWIS zeigen, daß es in der extrakorporalen Zirkulation primär zur Bildung von Plättchenaggregaten zu kommen scheint. Sie wollten an Hunden, die an eine extrakorporale Zirkulation angeschlossen waren und 4 mg Heparin/kg Körpergewicht erhielten, die Beziehung zwischen Erythrozytenaggregation und Durchflußrate in vitro untersuchen. An Stelle von Erythrozytenaggregaten zählten sie jedoch 'Mikromassen' von aggregierten Plättchen. Diese maßen im Durchmesser 20 - 800 Mikron, waren gewöhnlich kleiner als 200 Mikron und traten in dem extrakorporalen System schon auf, als noch keine Erythrozytenaggregate beobachtet wurden (7).

Eine ähnliche Traumatisierung, wie sie eben beschrieben wurde, erfährt das Blut auch in der sogenannten künstlichen Niere. Hier wird der aus einer Unterarmarterie abgezweigte Blutstrom mittels einer Schlauchquetschpumpe dem Dialysator zugeleitet, in dem das Blut - an einer großen Oberfläche aus Fiberglas, Zellophan oder Cuprophan - Kontakt mit der Dialyseflüssigkeit gewinnt. Obwohl der Totraum der heute verwendeten Spulendialysatoren nur noch 250 - 350 ml beträgt (im Vergleich dazu beträgt er bei Herz-Lungen-Maschinen 1,2 - 2,5 l) und alleine durch Blut aufzufüllen wäre, greift man dennoch wegen der Gefahr der Sensibilisierung angesichts der Häufigkeit der Dialysen in einem bestimmten Zeitraum auf Blutersatzmittel zurück. Denkt man an die bei urä-

mischen Patienten häufig auftretende hämorrhagische Diatnese, so ist es von Nutzen, eventuelle zusätzliche Störungen der Thrombozytenfunktion durch ein bestimmtes Blutersatzmittel im voraus zu kennen (8).

Ein weiteres Problem bei der Anwendung von Herz-Lungen-Maschinen sowie von maschinellen Dialysatoren liegt in der ausreichenden Anticoagulierung des zirkulierenden Blutes. Diese wird stets durchgeführt, um perfusionsbedingte Störungen der Hämostase im Sinne einer intravasalen Blutgerinnung zu vermeiden. Dennoch treten in etwa 10 - 30 % der Fälle eine Verminderung von Gerinnungsfaktoren und eine Thrombopenie auf. Verschiedene Autoren empfehlen differierende Dosierungen des zur Anticoagulierung meist verwendeten Heparin. Nach LILLEHEI, GROSS u. anderen gibt man es intravenös vor der Perfusion in Dosen von 1,5 mg/kg Körpergewicht, nach SISKÄ und CRAPORD bis zu 4 mg/kg Körpergewicht entsprechend etwa 13650 - 36400 I.E. für einen 70 kg schweren Patienten. Hinzu kommt u.a. die Heparinmenge der intra operationem infundierten Blutkonserven. Obgleich man weiß, daß der Heparinspiegel im strömenden Blut unter physiologischen Bedingungen nach einer Stunde um 60 - 70 % abfällt, bestehen über die Beständigkeit des Heparins in Blutkonserven unterschiedliche Ansichten.

Unabhängig davon setzten wir in unseren Heparinversuchen stets 1428 I.E. Heparin pro 100 ml Blut zu und in einer zweiten Versuchsreihe als Anticoagulans Natriumcitrat, da häufig 1 - 3 Tage alte ACD - Blutkonserven während der Operation zugeführt werden und deshalb meist auch eine bestimmte Menge an Citratstabilisator im extrakorporal zirkulierenden Blut vorliegt.

Im Hinblick auf die extrakorporale Zirkulation versuchten wir, aggregierende oder desaggregierende Effekte verschiedener Blutersatzstoffe auf die Thrombozytenaggregation zu erfassen und, wenn möglich, die Entstehung von Mikroemboli und damit die Verlegung der Kreislauperipherie durch Wahl eines geeigneten Blutersatzstoffes zu verhindern.

M E T H O D I K

Geprüft wurde der Einfluß von Macrodex^R 6%, Rheomacrodex^R 10%, Haemacel^R 3,5% und Gelifundol^R 5,6% auf die spontane Thrombozytenaggregation in Citrat - und Heparinblut. In der Versuchsgruppe I-IV wurde jeweils 1 ml dieser Substanzen 20 ml Citratblut (1:4) zugesetzt und in Versuchsgruppe V-VIII 20 ml Heparinblut (1428 I.E. Heparin/100 ml Blut) zugegeben. In den Versuchsgruppen IX und X wurde der Einfluß von Histamin und Endotoxin auf die Aggregationsneigung der Thrombozyten untersucht. Dem im Verhältnis 1:4 aufgezogenen Citratblut wurden 124 Gamma Endotoxin/100 ml Blut oder 620 Gamma Histamin/100 ml Blut zugesetzt.

Als Kontrolle (K) wurde dem Citrat - bzw Heparinblut anstelle der zu prüfenden Substanz (P) 1 ml physiologische Kochsalzlösung zugesetzt.

VersuchsschemaVersuche mit Citratblut

Versuchsgruppe I	4 ml 3,8%iges Natr, Citr. +16 ml Blut	
		+ 1 ml Macrodex
II	"	"
		+ 1 ml Rheomacrodex
III	"	"
		+ 1 ml Haemacel
IV	"	"
		+ 1 ml Gelifundol
Kontrolle	"	"
		+ 1 ml physiolog. Kochsalzlsg.

Versuche mit Heparinblut

Versuchsgruppe V	4 ml Heparinlsg. (228 I.E.) +16 ml Blut	
		+ 1 ml Macrodex
VI	"	"
		+ 1 ml Rheomacrodex
VII	"	"
		+ 1 ml Haemacel
VIII	"	"
		+ 1 ml Gelifundol
Kontrolle	"	"
		+ 1 ml physiolog. Kochsalzlsg.

Versuche mit Citratblut

Versuchsgruppe IX	4 ml 3,8 %iges Natr.Citr. + 16 ml Blut	
	+ 1 ml Endotoxin-Lösung *	
X	"	"
	+ 1 ml Histamin-Lösung	
Kontrolle	"	"
	+ 1 ml physiolog.Kochsalzlsg.	

Jede Versuchsgruppe setzt sich aus mehreren Einzelversuchen ($N = 5 - 11$) zusammen, wozu in jeder Gruppe verschiedene Blutspender herangezogen wurden. Es handelte sich um männliche und weibliche Probanden im Alter von 17 - 30 Jahren, die nach eigenen Aussagen gesund waren. Bei jedem Blutspender wurden die Thrombozyten in der Zählkammer nach der Methode von FEISSLY gezählt und der Hämatokrit mit der Mikromethode bestimmt. Die Thrombozytenwerte lagen im Mittel bei 190000 ± 80000 , der Hämatokrit lag zwischen 35 und 52 %.

Die Blutentnahme erfolgte unter sterilen Cautelen aus der Vena cubiti mittels einer Blutentnahmekanüle Nr.1 in zwei 20 ml Einmalspritzen aus Plastik. In jede Spritze wurden 16 ml Blut zu 4 ml 3,8 %igem Natriumcitrat bzw. zu 4 ml Heparin-Lösung (mit 228 I.E.) langsam aufgezogen. Die Spritze, deren Blut den Kontrollbestimmungen dienen sollte, wurde zusätzlich mit 1 ml physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt, in die andere Spritze wurde zusätzlich 1 ml des zu untersuchenden Plasmaersatzstoffes gegeben. Der Inhalt beider Spritzen wurde dann durch vorsichtiges Kippen (30 mal) durchmischt und in je 6 Plastikreagenzröhrchen mit nicht benetzbarer Oberfläche verteilt. Um das Blut ähnlichen unphysiologischen Bedingungen auszusetzen wie in den Systemen der extrakorporalen Zirkulation und der Dialyse, ließen wir die Blutproben 10 Stunden im Wasserbad mit einem Neigungswinkel von 50° bei 37° Celsius mit 1 Umdrehung pro Minute rotieren.

Zu zwei Zeitpunkten, 4-5 und 8-10 Stunden nach der Blutentnahme, wurden je drei Bestimmungen des "SFP" und "SVD" von Kontrollen und Proben durchgeführt. Der Siebungsdruck (SFP) einer Blutprobe wurde nach SWANK und der Siebverlegungsdruck (SVD)

*Das verwendete Endotoxin war aus E.Coli gewor.

nach der von NEUHOF modifizierten Methode wie folgt erfaßt: Einem der dicht verschlossenen Plastikreagenzröhrchen wird das Blut mittels einer Glasspritze entnommen. 2 ml Blut werden durch einen mechanischen Vortrieb aus der Glasspritze mit einer konstanten Geschwindigkeit von 0,2 ml/sek. durch ein Mikrosieb gepreßt, welches sich hinter einem Bohrkanal von 0,75 mm Durchmesser befindet. Seitenständig dazu wird mit einem Statham Strain Gauge Transducer über eine Hellige-Meßbrücke und einen Kompensationslinienschreiber der Druck vor dem Sieb als Siebungsdruck (SFP) gemessen und aufgezeichnet. Die zur Messung benutzten Siebe haben eine Porenweite von 20μ mal 20μ und ebenfalls 20μ breite verbindende Stege zwischen den einzelnen Poren. Der gesamte Meßvorgang erfolgt bei einer konstanten Temperatur von 37 Grad Celsius.

Der Siebverlegungsdruck (SVD) wird wie folgt bestimmt: ein in die Apparatur eingelegtes gereinigtes Mikrosieb wird zunächst mit physiologischer Kochsalzlösung als Testlösung anstelle von Blut durchströmt und der ermittelte SFP der physiologischen Kochsalzlösung wird mit 'Leerwert 1' benannt. Dann wird mit demselben Sieb der SFP der zu untersuchenden Blutprobe bestimmt. Anschließend wird das in dieser Weise benutzte Sieb nochmals mit physiologischer Kochsalzlösung durchströmt. Der jetzt gemessene Druck ergibt den 'Leerwert 2'. Die Druckdifferenz zwischen beiden 'Leerwerten' wird als Siebverlegungsdruck (SVD) bezeichnet. Für den Meßvorgang werden nur Siebe verwendet, die bei erstmaliger Durchströmung mit der Testlösung einen SFP von 10 mm Hg nicht überschreiten. Die Reinigung der Siebe geschieht mit Ultraschall in einer 'Haemo-Sol' Lösung. Anschließend werden die Siebe mehrmals mit destilliertem Wasser gespült (13).

Der Vorteil dieser Methode gegenüber anderen Methoden, die der Messung von Thrombozytenaggregaten dienen (vergl. Seite 38), liegt darin, daß man mechanisch relativ stabile Plättchenaggregate mißt, die vergleichsweise auch im strömenden Blut nicht auseinandergerissen würden, und darin, daß man mit Vollblut arbeitet anstelle von Plasma, welches für eine Plättchensuspension ein abnormales Medium darstellt (12,30).

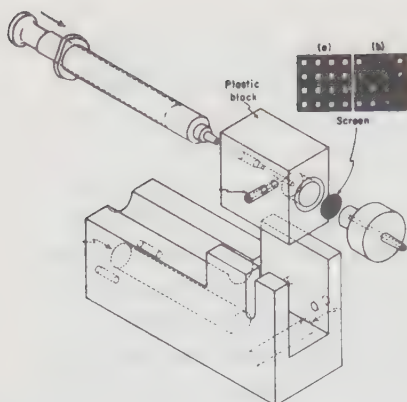


Abb.1 Schemat.Zeichnung des Plastikblocks,in den das Mikrosieb eingelegt wird,und des Aluminium-blocks,der Heizung und Thermostat (37°) enthält.(nach R.L.SWANK,Am.J.Phys.)

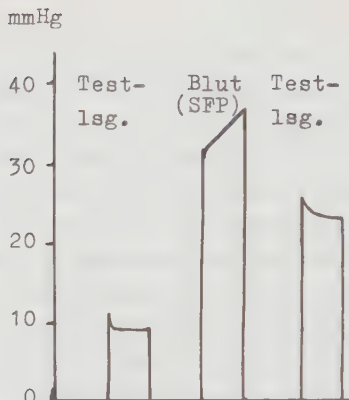


Abb.2 Schemat.Darstellung der Kurven des SVD und des SFP.

Für die Untersuchung von Blutproben auf Microemboli ist der SVD ein besseres Kriterium als der SFP, weil im Gegensatz zu diesem eine Veränderung der Blutviskosität das Meßergebnis nicht störend beeinflusst. Mit zunehmender Zahl aggregierter siebverlegender Partikel steigt der SVD annähernd exponentiell an. Diese Partikel, deren flächenverlegende Wirkung auch nach zweimaliger Durchspülung des Siebes mit physiologischer Kochsalzlösung nicht abnimmt, konnten nach anschließendem "Ausstreichen" des Siebes auf einen Objektträger und Anfärben des Präparates mittels der kombinierten Färbung nach Pappenheim (Ausdehnung der Färbung auf etwa 50 Minuten) als reine Thrombozytenaggregate erkannt werden. Diese Darstellung erfaßt nur einen geringen Teil aller Aggregate, da man annehmen muß, daß der größte Teil aller Aggregate in dem Balkennetz des Siebes hängenbleibt: Bei erneuter Betrachtung des Siebes unter dem Mikroskop hatte die Zahl der flächenverlegten Felder nicht abgenommen.

SWANK, der den SFP als quantitatives Maß zur Erfassung von Thrombozytenaggregaten in Blutproben ansieht, konnte durch

Blutausstrichpräparate zeigen, daß sich in Blutproben mit hohem SFP zahlreiche Thrombozytenaggregate finden, die im Durchschnitt $100 - 200 \mu$ groß sind und die teilweise von Leukozyten umgeben sind. Im Normalblut dagegen fehlten die Aggregate entweder völlig oder waren nur bis zu einer Größe von 15μ nachzuweisen (14). Bei der Bestimmung des SFP geht außer den in der Blutprobe enthaltenen Partikeln auch die Viskosität des Blutes, die u.a. vom Hämatokrit, den Erythrozytenvolumina und der Zusammensetzung der Plasmaeiweiße abhängig ist, in den Meßvorgang ein (13). Da jedoch eine Änderung der Viskosität der einzelnen Blutproben eines Spenders in unserem Versuchsmodell nur noch in sehr geringem Grade zu erwarten war, erschien es gerechtfertigt, sowohl den Siebungsdruck als auch den Siebverlegungsdruck als Maß für die Anzahl der Plättchenaggregate im Mikrosieb zu betrachten; wobei beide Drücke das tatsächliche Ausmaß der Plättchenaggregate im Sieb verschieden genau wiedergeben. Daß es sich dabei um Plättchenaggregate handelte, konnte durch die Photographien 1 - 4 (vergl. Seite 10 u. 11) belegt werden.

Das empfindlichere Ansprechen des SVD auf siebverlegende Partikel, zu denen auch Verunreinigungen zu zählen sind, macht sich in einer prozentual größeren Streuung der Einzelwerte des SVD bemerkbar. Bei dem Vergleich von 1700 Einzelmeßwerten des SVD und des SFP, der summarisch die Versuchsgruppen I - VIII erfaßte, lag die mittlere Streuung des SVD um 54,9 % über der des SFP. Da der Betrag der absoluten Streuung beider Meßgrößen wesentlich näher beieinander liegt, wird man die ungleiche Verteilung der Thrombozytenaggregate in den Blutproben eines Spenders als Hauptfehlerquelle für die Streubreite des Mittelwertes von SVD und SFP ansehen müssen.

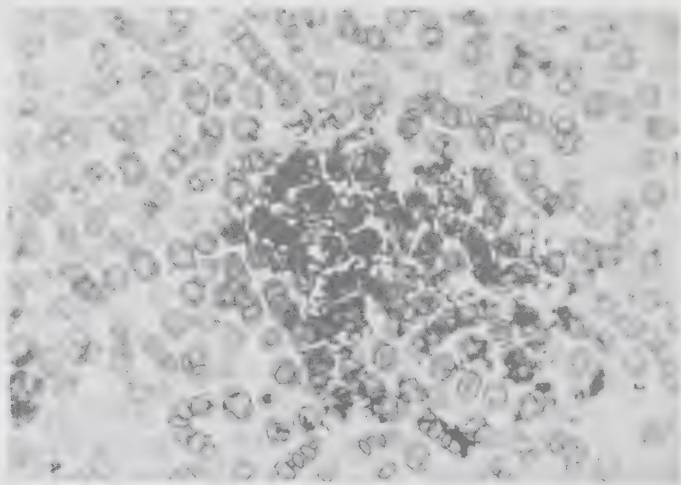
Bei gesunden Versuchspersonen, deren Blutviskosität nicht stark erhöht ist, liegt der Ausgangswert für den SVD unmittelbar nach Blutentnahme bei 0 mm Hg, derjenige für den SFP zwischen 30 und 50 mm Hg (13).

Fotogr.1
 kombinierte
 Färbung nach
 Pappenheim.
 100 fache
 Vergrößerung



Vollblutausstrich frisch entnommenen Heparinblutes
 nach 4 stündiger Drehung im Wasserbad von 37° C.

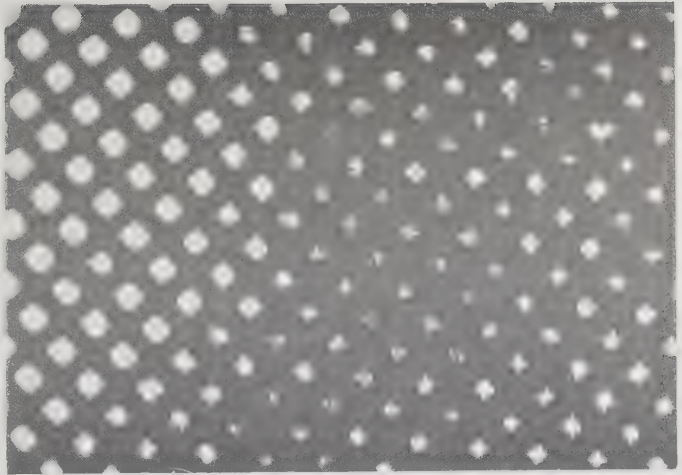
Fotogr.2
 kombinierte
 Färbung nach
 Pappenheim.
 400 fache
 Vergrößerung



Bildausschnitt mit Thrombozytenaggregaten auf
 Erythrozyten in "Geldrollenform".

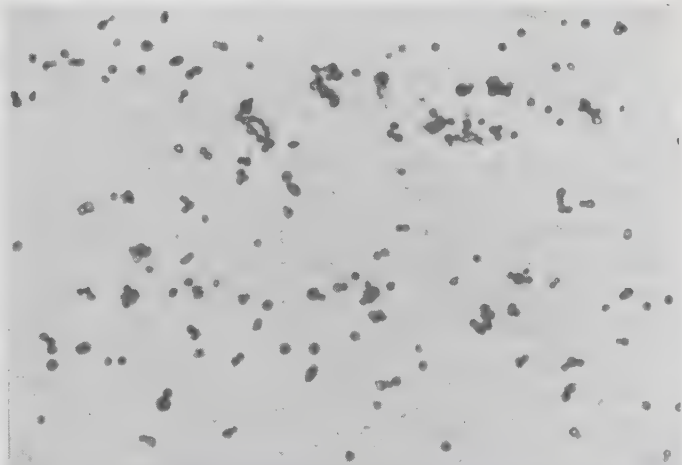
Fotogr.3

Sieb nach dem Passieren des Blutgemisches und nachfolgender 2maliger Durchspülung mit physiologischer Kochsalzlösung, wodurch das System blutleer gespült worden war. 100 fache Vergrößerung.
Porenweite: 20μ mal 20μ .



Fotogr.4

kombinierte Färbung nach Pappenheim. "Ausstreichen" des in Fotografie 3 beschriebenen Siebes auf einen Objektträger. Dieser wurde von lockeren



Thrombozytenaggregaten übersät gefunden, die relativ weit auseinanderlagen. In dem Sieb hatte die Zahl der verlegten Poren nicht abgenommen, d.h., es waren nur die oberflächlichen Thrombozytenaggregate auf dem Objektträger zerschlagen worden.
250 fache Vergrößerung.

E R G E B N I S S E

In Citratblut beobachtet man einen mit der Zeit langsam zunehmenden Anstieg der Thrombozytenaggregation.

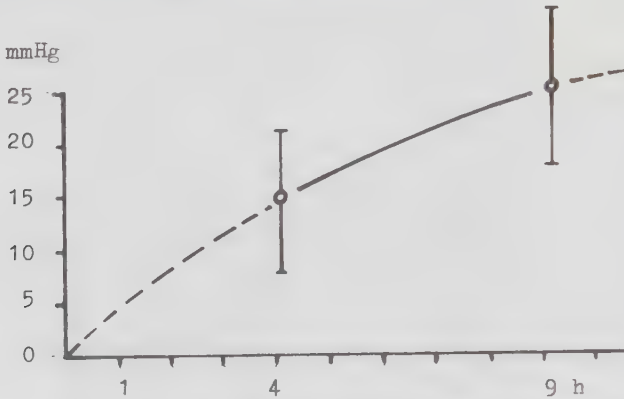
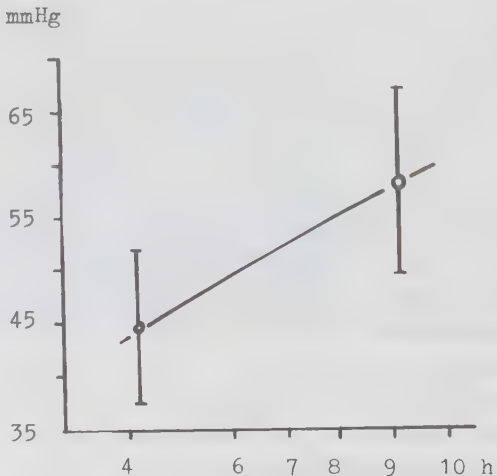


Abb.3 Verhalten des Siebverlegungsdruckes(SVD) der Kontrollgruppen (N=28) in Citratblutversuchen nach 4,5 und 9,5 Stunden.(Standardabweichung der Mittelwerte senkrecht eingetragen)

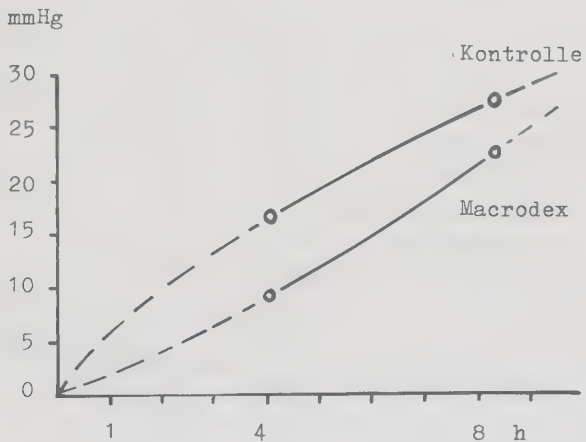
Etwa parallel dazu verläuft die Kurve des Siebungsdruckes (SFP) zwischen den beiden Zeitpunkten.

Abb.4 Verhalten des Siebungsdruckes(SFP) der Kontrollgruppen (N=28) in Citratblutversuchen nach 4,5 und 9,5 Stunden. (Standardabweichung der Mittelwerte senkrecht eingetragen)



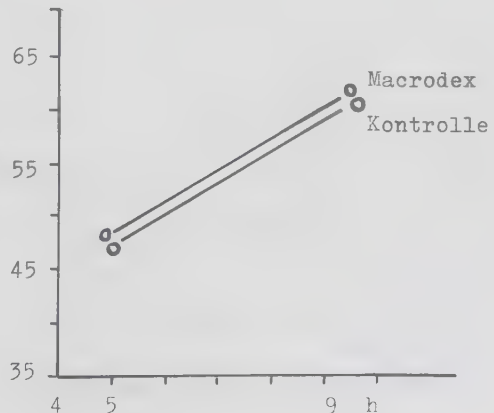
Im folgenden Teil wird der Verlauf der Thrombozytenaggregation nach Zusatz der einzelnen Plasmaersatzstoffe zu Citratblut im Vergleich zu Blutproben, denen physiologische Kochsalzlösung zugesetzt wurde, dargestellt.

Abb.5 Verhalten des Siebverlegungsdruckes (SVD) von Citratblut bei Zusatz von Macrodex 6% im Vergleich zu Kontrollblut zu 2 Zeitpunkten. (Mittelwerte aus 10 Einzelmessungen)



Sowohl der SVD als auch der SFP sind unter Macrodex 6% nicht signifikant verändert gegenüber Kontrollblut.

Abb.6 Verhalten des Siebungsdruckes (SFP) von Citratblut bei Zusatz von Macrodex 6% im Vergleich zu Kontrollblut zu 2 Zeitpunkten. (Mittelwerte aus 10 Einzelmessungen)



Blutproben, denen man Rheomacrodex (Dextran in 10%-iger Lösung mit einem mittleren Mol.Gew. von 40000) zusetzt, zeigen eine gering gesteigerte Plättchenaggregation nach 4 Stunden, gemessen am Verhalten des Siebungsdruckes (SFP) - ($p < 0,05$ im Student - Test).

Abb. 7

Verhalten des Siebungsdruckes (SFP) von Citratblut bei Zusatz von Rheomacrodex 10% im Vergleich zu Kontrollblut zu 2 Zeitpunkten. (Mittelwerte aus 10 Einzelmessungen)

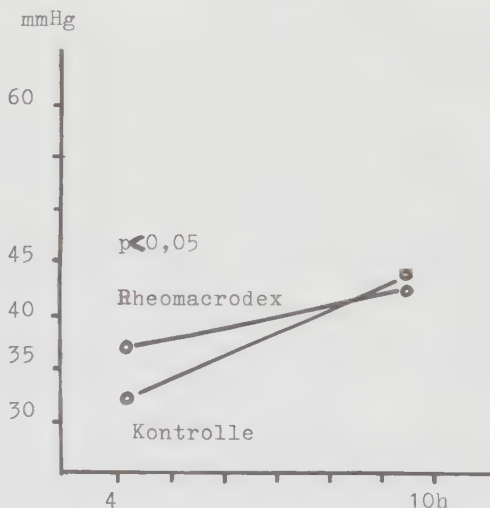
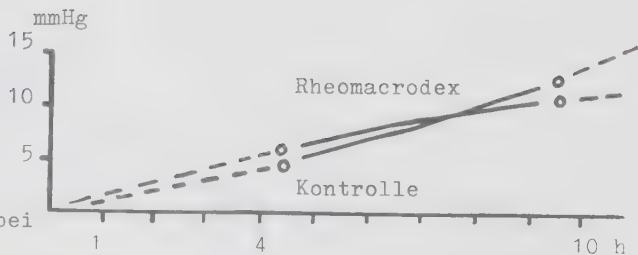


Abb. 8

Verhalten des Siebverlegungsdruckes (SVD) von Citratblut bei Zusatz von Rheomacrodex 10% im Vergleich zu Kontrollblut zu 2 Zeitpunkten. (Mittelwerte aus 10 Einzelmessungen)



Unter den Gelatinepräparaten Haemaccel und Gelifundol in Citratblut konnten im Vergleich zu Normalblut keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich der Zunahme der Plättchenaggregation festgestellt werden.

Abb.9 Ver-
halten des
Siebverle-
gungsdruckes
(SVD) von
Citratblut
bei Zusatz
von Haemac-
cel 3,5% im
Vergleich zu
Kontrollblut
zu 2 Zeit-
punkten.
(Mittelwerte aus
10 Einzelmessungen)

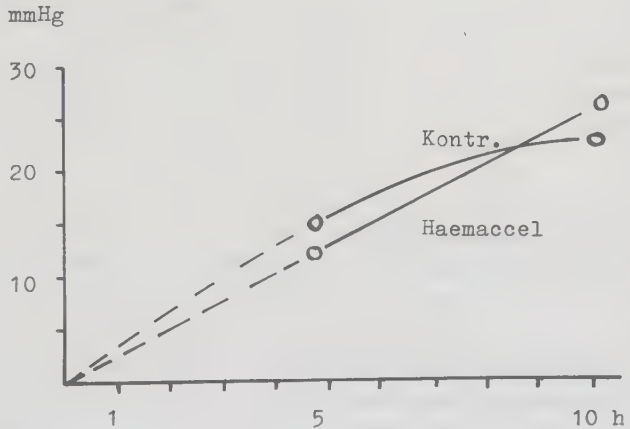


Abb.10 Verhal-
ten des Siebungs-
druckes (SFP) von
Citratblut bei Zu-
satz von
Haemaccel 3,5%
im Vergleich zu
Kontrollblut zu
2 Zeitpunkten.
(Mittelwerte
aus
10 Einzelmessungen)

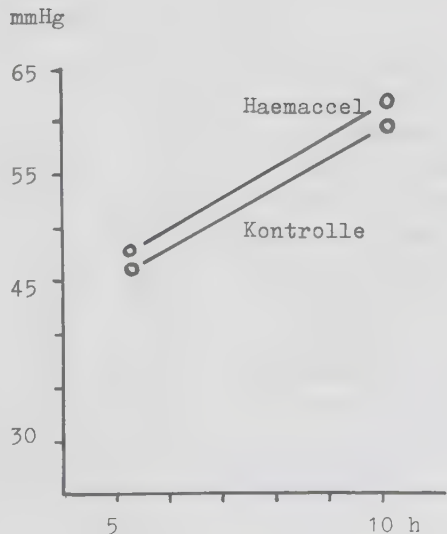


Abb.11 mmHg

Ver-

halten

des

Sieb-

verle-

gungs-

druckes

(SVD)

von

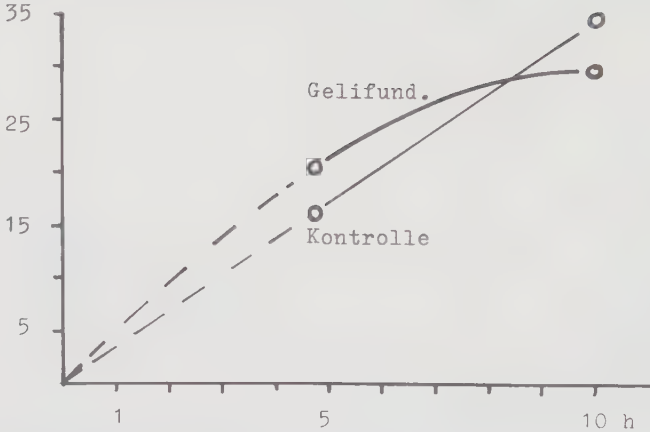
Citrat-

blut

bei Zu-

satz

von



Gelifundol 5,6% im Vergleich
zu Kontrollblut zu 2 Zeit-
punkten. (Mittelwerte aus
11 Einzelmessungen)

Abb.12 Ver-

halten des

Siebungsdruck-

kes(SFP) von

Citratblut bei

Zusatz von

Gelifundol 5,6%

im Vergleich

zu Kontrollblut

zu 2 Zeitpunkten.

(Mittelwerte

aus

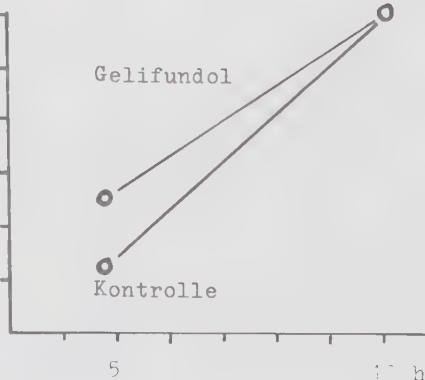
11 Einzelmessungen)

mmHg

70

55

45



In weiteren Versuchen wurden dieselben Plasmaersatzstoffe Macrodex 6% ,Rheomacrodex 10% ,Haemaccel 3,5% ,Gelifundol 5,6% H e p a r i n b l u t zugesetzt (1428 I.E. Liquemin^R pro 100 ml Blut).

Die dazugehörigen Kontrollversuche mit Heparinblut zeigten ein umgekehrtes Verhalten als die Kontrollen mit Citratblut: nach 4 Stunden fanden sich die höchsten Werte des SFP und SVD und nach 8-10 Stunden die niedrigsten gemessenen Werte. Während im Citratblut eine langsame, kontinuierlich zunehmende Thrombozytenaggregation erfolgt, aggregieren im Heparinblut die Thrombozyten zunächst schneller, bis zur 10. Stunde kommt es jedoch anschließend wieder zu einer partiellen Desaggregation.

Abb.13
Verhalten
des Sieb-
verlegungs-
druckes
(SVD) der
Kontroll-
gruppe
(N=16) mit
Heparinblut
nach 4 und
9 Stunden.
(Standard-
abweichung
der Mittel-
werte senk-
recht eingetragen)

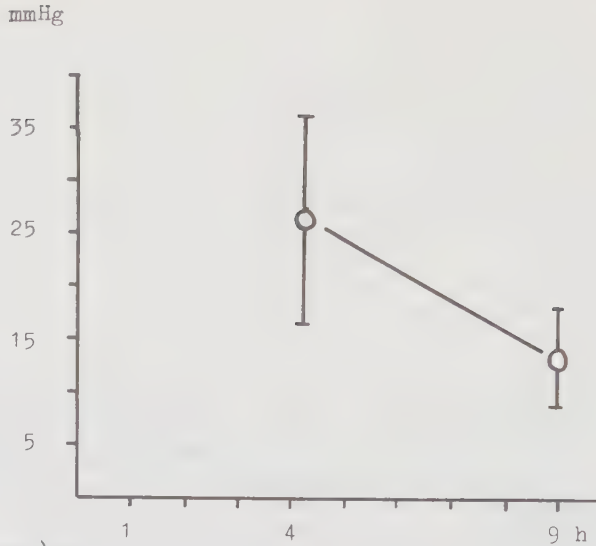
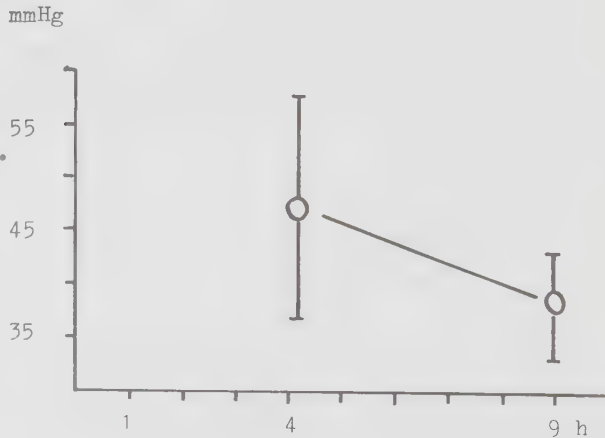


Abb.14
Verhalten
des Siebungs-
druckes (SFP)
der Kontrollgr.
(N=16) mit
Heparinblut
nach 4 und 9
Stunden.
(Standardab-
weichung der
Mittelwerte
senkrecht
eingetragen)



Der Zeitpunkt der unter Heparin möglichen maximalen Thrombozytenaggregation ist nicht genau bekannt.

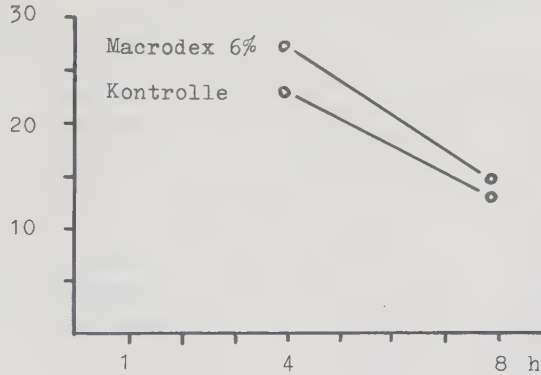
Im folgenden Teil wird der Verlauf der Thrombozytenaggregation nach Zusatz der einzelnen Plasmaersatzstoffe zu Heparinblut im Vergleich zu Blutproben, denen physiologische Kochsalzlösung

Abb.15

mmHg

zugesetzt wurde, dargestellt.

Verhalten des
Siebverlegungs-
druckes(SVD)
von Heparin-
blut bei Zu-
satz von Macro-
dex 6% im Ver-
gleich zu Kon-
trollblut zu
2 Zeitpunkten.
(Mittelwerte
aus 5 Einzel-
messungen)

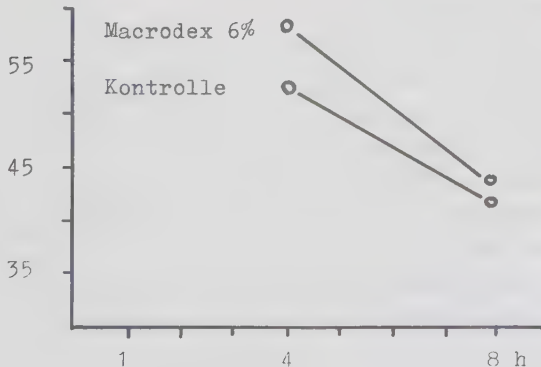


Heparinisierte Blutproben, denen Macrodex 6% zugesetzt worden war, zeigten gemessen an dem SVD und dem SFP nach 4 Stunden eine im Vergleich zu den Kontrollen um 10 - 20% gesteigerte Thrombozytenaggregation.

Abb.16

mmHg

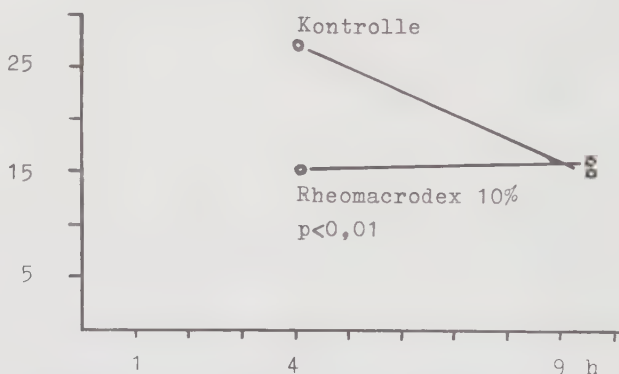
Verhalten des
Siebungsdruck-
kes (SFP) von
Heparinblut
bei Zusatz
von Macrodex
6% im Vergleich
zu Kontroll-
blut zu 2
Zeitpunkten.
(Mittelwerte
aus 5 Einzel-
messungen)



Bei Zusatz von Rheomacrodex 10% war nach 4 Stunden in den heparinisierten Blutproben die Thrombozytenaggregation gemessen am SVD im Vergleich zu Kontrollblut um etwa 30% vermindert. Nach 9-10 Stunden fand sich jedoch kein signifikanter Unterschied mehr zu den Kontrollen.

Abb.17 mmHg

Verhalten des Siebverle-
gungsdruck-
kes (SVD)
von Hepa-
rinblut
bei Zusatz
von Rheo-
macrodex 10%
im Vergleich
zu Kontroll-
blut zu 2
Zeitpunkten.

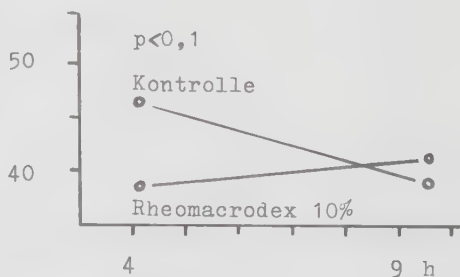


(Mittelwerte aus 5 Einzelmessungen)

Abb.18

Verhalten des Siebungsdruck-
kes (SFP) von
Heparinblut bei
Zusatz von Rheo-
macrodex 10% im
Vergleich zu Kon-
trollblut zu 2
Zeitpunkten.

mmHg



(Mittelwerte aus 5 Einzelmessungen)

Den stärksten aggregationshemmenden Effekt aller getesteten Substanzen der Versuchsgruppen I-VIII beobachteten wir nach Zugabe von Haemaccel zu Heparinblut, das schon normalerweise eine maximal gesteigerte Plättchenaggregation nach 4 Stunden aufwies, verglichen mit den anderen Kontrollgruppen. Der SVD und SFP lag bei Haemaccel zur 4. Stunde um 53 bzw. 30% niedriger als in Kontrollblut. Nach 8 Stunden fand sich kein Unterschied mehr zwischen beiden Gruppen.

Abb.19 Verhalten des Siebverlegungsdruckes (SVD) von Heparinblut bei Zusatz von Haemaccel 3,5% im Vergleich zu Kontrollblut zu 2 Zeitpunkten. (Mittelwerte aus 6 Einzelmessungen)

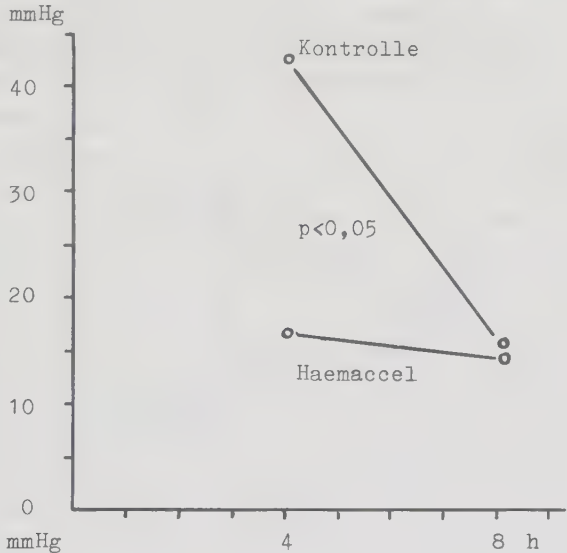
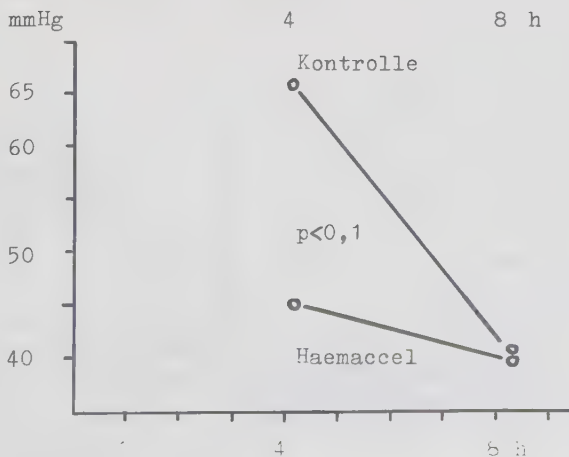


Abb.20 Verhalten des Siebungsdruckes (SFP) von Heparinblut bei Zusatz von Haemaccel 3,5% im Vergleich zu Kontrollblut zu 2 Zeitpunkten. (Mittelwerte aus 6 Einzelmessungen)



Bei Zugabe von Gelifundol zu heparinisiertem Blut lag im Mittel der SFP und SVD während der Beobachtungszeit über den Kontrollwerten. Signifikant erhöht war allerdings nur der SFP nach 4 Stunden.

Abb.21

Verhalten des Siebungsdruckes (SFP) von Heparinblut bei Zusatz von Gelifundol 5,6% im Vergleich zu Kontrollblut zu 2 Zeitpunkten.
(Mittelwerte aus 5 Einzelmessungen nach 4 Stunden und 6 Einzelmessungen nach 10 Stunden)

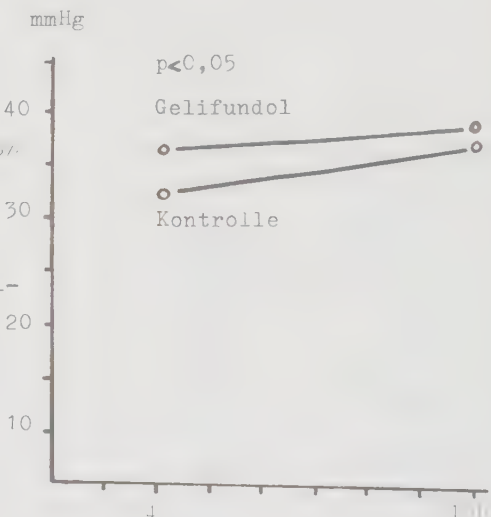
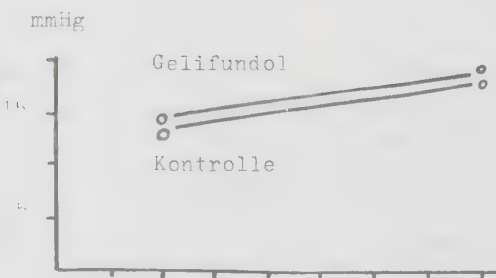


Abb.22

Verhalten des Siebverlegungsdruckes (SVD) von Heparinblut bei Zusatz von Gelifundol 5,6% im Vergleich zu Kontrollblut zu 2 Zeitpunkten.
(Mittelwerte aus 5 Einzelmessungen nach 4 Stunden und 6 Einzelmessungen nach 10 Stunden)



Um sicher zu sein, daß die in den Versuchen gemessenen Anstiege des SFP und SVD nicht durch die verwendeten Substanzen selbst bedingt waren, führten wir die in Abbildung 23 und 24 dargestellten "Leerversuche" ohne Blut durch: obwohl der Siebungsdruck handelsfertiger kolloidaler Plasmaersatzstoffe als Ausdruck ihrer höheren Viskosität im Vergleich zu kristallinen Lösungen stark erhöht ist, erzeugen sie in der im Versuch vorliegenden Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung ohne das Substrat Blut nur einen Siebungsdruck, der 9 mmHg nicht überschreitet.

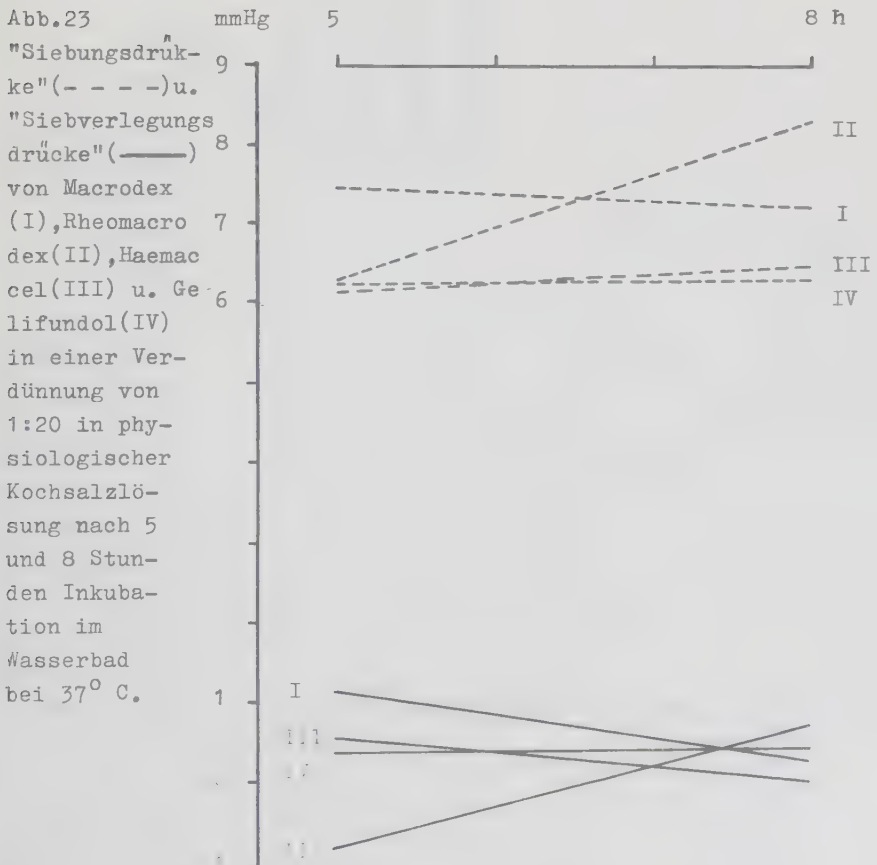
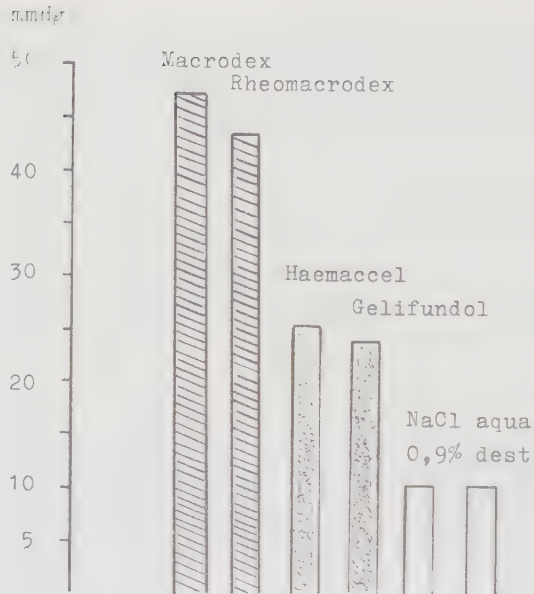


Abb.24
 Siebungsdrücke
 der 4 Plasma-
 ersatzstoffe
 in handelsüb-
 licher Lösung
 im Vergleich
 zu physiolo-
 gischer Koch-
 salzlösung
 und aqua dest.

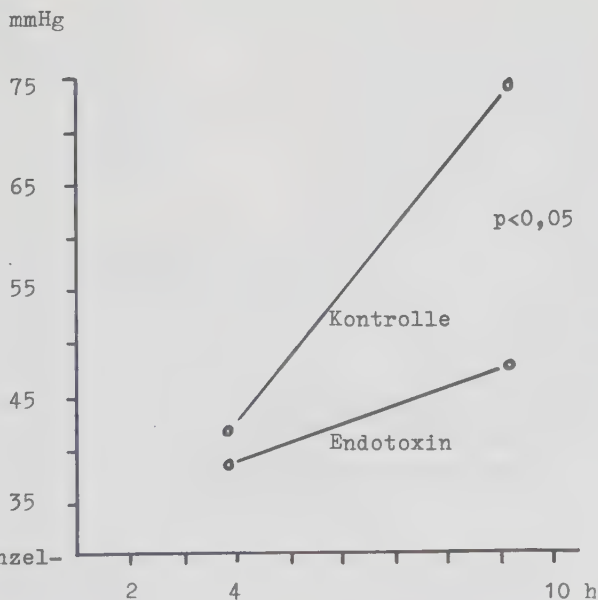


Da von verschiedenen Autoren (A. NIKULIN, HARDAWAY et alii) im Zusammenhang mit Schockversuchen, ausgelöst durch Endotoxin und Histamin, wiederholt über eine erhöhte Agglutinationsneigung der Blutplättchen in vivo und in vitro berichtet worden war, untersuchten wir den Einfluß dieser Substanzen auf die Thrombozytenaggregation in vitro nach 4 und 10 Stunden (33).

Während wir in den Endotoxin-Blutproben nach 4 Stunden keinen Unterschied zu den Kontrollblutproben registrierten, fanden wir nach 10 Stunden in den Endotoxin-Blutproben eine signifikante, wesentlich geringere Anzahl mechanisch fester Thrombozytenaggregate als im Kontrollblut.

Abb. I

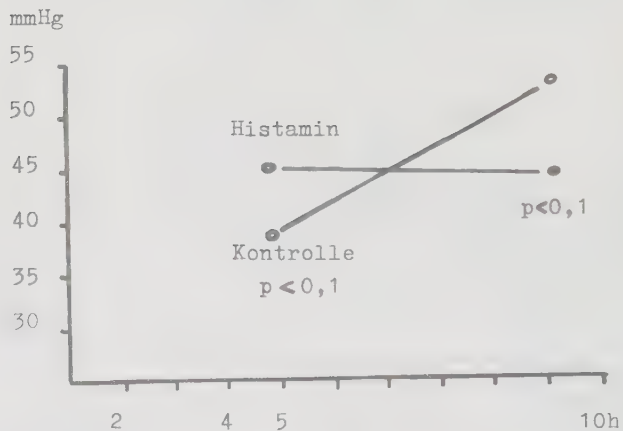
Verhalten des Siebungsdruckes (SFP) von Citratblut bei Zusatz von Endotoxin (124 μ /100 ml Blut) im Vergleich zu Kontrollblut zu 2 Zeitpunkten. (Mittelwerte aus 10 Einzelmessungen nach 4 Stunden und 6 Einzelmessungen nach etwa 10 Stunden)



Das Verhalten des SVD ist in der Tabelle 4 angeführt.

Die im Histaminblut erkennbare Tendenz einer anfänglich gesteigerten Aggregation mit nachfolgendem Abfall der aggregierten Plättchen unter die Werte im Normalblut ließ sich statistisch nicht sichern.

Abb. II
Verhalten
des Sie-
bungsdruck-
kes (SFP)
von Citrat-
blut bei
Zusatz von
Histamin
(620 μ /100ml
Blut) im Ver-
gleich zu
Kontrollblut
zu 2 Zeit-
punkten.



(Mittelwerte aus 8 Einzelmessungen nach 4-5 Stunden und 6 Einzelmessungen nach 10 Stunden)

Das Verhalten des SVD ist in der Tabelle 4 angeführt.

TABELLE 1

Versuchsgruppe	Abb.	Zahl d. Versuche	Differenz des SVD zwischen Probe und Kontrolle nach 4-5 Stunden Inkubation im Wasserbad	Standardabweichung der Differenzen	t-Wert (Student-Test)	Differenz des SFP zwischen Probe und Kontrolle nach 4-5 Stunden Inkubation im Wasserbad	Standardabweichung der Differenzen	t-Wert (Student-Test)
Citratblut								
Macrodex	5,6	10	- 7,13 mmHg	14,5	1,547	0,44 mmHg	15,74	0,088
Rheomacr.	8,7	10	1,37 "	2,94	1,476	5,25 "	5,22	3,184
Haemaccel	9,10	10	- 2,36 "	9,89	0,756	1,43 "	11,95	0,379
Gelifund.	11,12	11	4,062 "	10,75	1,188	6,29 "	14,88	1,401
Differenz des SVD zwischen Probe und Kontrolle nach 8-10 Stunden Inkubation im Wasserbad								
Citratblut								
Macrodex	5,6	10	- 4,75 mmHg	20,2	0,742	0,74 mmHg	20,98	0,113
Rheomacr.	8,7	10	- 1,11 "	5,8	0,609	- 0,86 "	8,81	0,311
Haemaccel	9,10	10	5,03 "	13,01	1,223	2,22 "	17,18	0,410
Gelifund.	11,12	11	- 4,06 "	12,98	1,106	0,06 "	17,6	0,137

TABELLE 2

Versuchsgruppe	Versuchs-Abb., Zahl d. Versuche	Differenz des SVD zwischen Probe und Kontrolle nach 4-5 Stunden Inkubation im Wasserbad	Standardabweichung der Differenzen	t-Wert (Student-Test)	Differenz des SFP zwischen Probe und Kontrolle nach 4-5 Stunden Inkubation im Wasserbad	Standardabweichung der Differenzen	t-Wert (Student-Test)
Heparinblut							
Macroderex	15, 16	4,69 mmHg	2,58	4,067	5,83 mmHg	3,75	3,476
Macroderex	17, 18	- 7,20 "	3,21	5,005	- 8,09 "	6,73	2,688
Macroderex	19, 20	-23,76 "	20,05	2,902	-20,84 "	23,91	2,134
Macroderex	21, 22	1,34 "	8,55	0,350	4,34 "	2,84	3,417
Differenz des SVD zwischen Probe und Kontrolle nach 8-10 Stunden Inkubation im Wasserbad							
Heparinblut							
Macroderex	15, 16	1,54 mmHg	4,97	0,715	0,87 mmHg	4,88	0,248
Macroderex	17, 18	0,58 "	7,42	0,176	2,33 "	4,47	1,167
Macroderex	19, 20	- 2,01 "	6,51	0,758	- 0,28 "	6,38	0,109
Macroderex	21, 22	0,25 "	8,85	0,069	1,74 "	8,64	0,498

TABELLE 3

Versuchs- gruppe	Abb.	Zahl der Versuche	Mittelwert des SVD nach 4-5 Stunden In- kubation im Wasserbad	Standardab- weichung des Mittelwertes	Mittelwert des SFP nach 4-5 Stunden In- kubation im Wasserbad	Standardab- weichung des Mittelwertes
Citratblut	3, 4	28	14,5 mmHg	6,7	44,71 mmHg	7,4
Kontrollen						
Heparinblut			26,3 "	10,4	47,68 "	10,6
Kontrollen	13, 14	16	Mittelwert des SVD nach 8-10 Stunden In- kubation im Wasserbad		Mittelwert des SFP nach 8-10 Stunden In- kubation im Wasserbad	
Citratblut	3, 4	28	24,97 mmHg	7,5	58,72 mmHg	8,8
Kontrollen	13,					
Heparinblut	13, 16		13,37 "	4,6	38,16 "	9,0
Kontrollen	14					

29

TABELLE 4

Versuchs- gruppe	Abb.	Zahl d. Versuche	Differenz des SVD zwischen Probe und Kontrolle nach etwa 5 Stunden Inkubation im Wasserbad	Standardab- weichung der Differenzen	Differenz des SFP zwischen Probe und Kontrolle nach ca. Stunden Inkubation im Wasserbad	Standard- abweichung der Differ- enzen	t-Wert (Stu- dent- Test)
Citratblut		10	- 2,93 mmHg	11,3	- 2,96	13,48	0,694
Endotoxin I							
Histamin II		8	3,65 "	7,71	6,38	8,6	2,097

DISKUSSION

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß es nicht möglich ist, die Wirkung von Plasmaersatzstoffen auf die Thrombozytenaggregation ohne nähere Differenzierung der Dextran - oder der Gelatinegruppe zuzuordnen. Alle Plasmaersatzstoffe beeinflussen 4 - 5 Stunden nach der Zugabe zu Vollblut in vitro die Thrombozytenaggregation, abhängig von der Aggregabilität der Plättchen im Normalblut. Maximale Senkung durch Rheomacrodex und Haemaccel scheint dort möglich, wo die Plättchenaggregation, ähnlich dem Verhalten in extrakorporalen Systemen, in den ersten 4 - 5 Stunden überdurchschnittlich ansteigt (s. Abb. 17 und 19). Davon abweichend wirkte Rheomacrodex in Blutproben, deren Aggregation nur mäßig zunahm, steigernd (s. Abb. 7). Dieser Effekt des Rheomacrodex ist jedoch wesentlich schwächer als der aggregationshemmende und offensichtlich an die unterschiedliche Beeinflussung der Thrombozytenfunktion durch Heparin bzw. Natriumcitrat gebunden.

Betrachtet man die Thrombozytenaggregation nach 8 - 9 Stunden, so läßt sich kein Unterschied mehr zwischen Proben und Normalblut in den Versuchsgruppen I - VIII feststellen. Es besteht also in vitro nur ein zeitlich begrenzter Einfluß der Plasmaersatzstoffe auf die Plättchenaggregation.

Auf der Suche nach Möglichkeiten, die Thrombozytenaggregation günstig zu beeinflussen, orientierten wir uns an Experimenten, bei denen unter den Bedingungen der extrakorporalen Zirkulation die Anwendung von Plasmaersatzstoffen eine günstige Wirkung auf die Mikrozirkulation gezeigt hatte. So wurde z.B. nach Perfusion mit Rheomacrodex und Blut bei Herzklappenersatzoperationen ein wesentlich geringerer Abfall der Thrombozyten im strömenden Blut beobachtet als nach der Perfusion mit Vollblut allein (MARTINOVIC und MELROSE, 1963). Da bei solchen Operationen mit einer gesteigerten Thrombozytenaggregation des im Cardio-Pulmonalen Bypass zirkulierenden Blutes zu rechnen ist, stimmen diese Befunde mit dem Ergebnis unserer Versuche mit Heparinblut überein, in dem die Plättchenaggregation primär gesteigert war und durch Zusatz von Rheomacrodex 10 % gesenkt

wurde. In-vitro-Versuche anderer Autoren mit Rheomacrodex-Konzentrationen, die der hier verwendeten entsprachen (5 mg/ml), zeigten in diesem Zusammenhang eine Abnahme der Plättchenfaktor 3 - Aktivität im Serum und klinisch eine Verzögerung der 1. Gerinnungsphase (15). Diese Effekte wurden auch unter einem höher konzentrierten Macrodexpräparat beobachtet. Macrodex 6 %, das wir nur in einer Konzentration von 3 mg/ml heparinisiertem Blut zugesetzt hatten, zeigte dagegen eine dem Rheomacrodex entgegengesetzte Wirkung im Sinne einer gesteigerten Aggregation.

In welchem Maße hierbei die geringere Konzentration von Macrodex eine Rolle spielt, konnte auch durch Versuche anderer Autoren nicht eindeutig geklärt werden: EWALD und EICHELBERGER, die sich mit der Frage der Thrombozytenfunktion nach Zusatz eines Dextranpräparates zu Blut beschäftigten, fanden in ihren Versuchen Folgendes: je höher sie die Konzentration eines bestimmten Dextrans für Blut wählten, desto stärker war die Abnahme der Plättchenfaktor 3 - Aktivität, gemessen im Serum; außerdem verhielt sich das steigende mittlere Molekulargewicht von Dextranen gleicher Konzentration, wenn auch in geringerem Ausmaß als die steigende Konzentration, proportional zur Abnahme der Plättchenfaktor 3 - Aktivität. In beiden Fällen hatte die Abnahme der Plättchenfaktor 3 - Aktivität jedoch keinen direkten Einfluß auf die Plättchenadhäsivität in vitro (15).

In-vitro-Versuche anderer Autoren (D. P. DHALL, P. N. BENETT) mit verschiedenen Dextranfraktionen in der sehr hohen Konzentration von 18,2 mg pro ml thrombozytenreichen Plasmas zeigten eine generell gesteigerte Thrombozytenaggregation, gemessen mit der turbidimetrischen Methode (16).

Die von uns in den Macrodex - Citratblutversuchen beobachtete desaggregierende Neigung von Macrodex, die statistisch nicht gesichert werden konnte, wird durch Befunde anderer Autoren mit 6 % Dextran 70 in vivo unterstützt. Sie fanden bei 6 gesunden Probanden eine Abnahme der Plättchenadhäsivität 4 Stunden nach der Infusion von 500 ml Dextran. Nach 6 Stunden lagen die Werte wieder im Ausgangsbereich. Diese Befunde seien auch auf

die Aggregation übertragbar (10).

In dem Bemühen, die unterschiedlichen Effekte verschiedener kolloidaler Plasmaersatzstoffe auf die Thrombozytenfunktion und andere Gerinnungsmechanismen zu erklären, weist LUTZ auf das Verhältnis der Dextranskonzentration zur Konzentration der Bluteiweißkörper als den entscheidenden Faktor hin (22). Dabei könnte es zu einer Störung der normalerweise rein negativen Ladung der Thrombozytenoberfläche nach dem Zusetzen künstlicher Kolloide kommen (27). Entscheidend sei dabei der Gehalt des Plasmas an Fibrinogen und M - Globulin.

Deutlicher faßbar tritt in unseren Versuchen die Wirkung der Plasmaersatzstoffe in Abhängigkeit von dem verwendeten Anticoagulans hervor: bei 3,8 % Natriumcitrat beobachteten wir eine zeitlich nur langsam zunehmende Plättchenaggregation im Kontrollblut, die nur durch einen der in dieser Gruppe getesteten Plasmaersatzstoffe, und zwar durch Rheomacrodex, nach 4 Stunden signifikant gesteigert wurde (vergl. Abb. 7). Dagegen konnte die unter Heparin nach 4-5 Stunden stark gesteigerte Plättchenaggregation wesentlich wirkungsvoller durch einen Teil der Substanzen beeinflusst werden: Haemaccel und Rheomacrodex 10 % senkten die Thrombozytenaggregation, gemessen am Verhalten des Siebungsdruckes und Siebverlegungsdruckes, auf 37 bzw. 51 % der im Kontrollblut gemessenen Aggregationsrate.

In diesem Zusammenhang interessieren die Befunde von TREDE und LEUTSCHAFT, die 1 Stunde nach der Perfusion heparinisierter Hunde einen besonders starken Abfall der Thrombozytenzahl unter Rheomacrodex im Vergleich zu Haemaccel fanden. 2 Stunden post perfusionem war die Thrombozytenzahl im Rheomacrodex-verdünnten Blut angestiegen, im Gegensatz zu Haemaccel. Da jedoch die Gerinnselbildungszeit noch verlängert und die maximale Thrombuselastizität noch gesenkt war, denkt BIERSTEDT an eine Rheomacrodex-bedingte Schädigung der Thrombozyten oder des Fibrinogens (17). Ein ähnliches vergleichendes Ergebnis erarbeitete LEUTSCHAFT am Modell der kurzgeschlossenen Herz-Lungen-Maschine. Er betont, daß man mit starken individuellen Schwankungen bei verschiedenen Versuchspersonen unter gleichen

Bedingungen rechnen müsse (2).

Die Frage, ob die von uns beobachtete Reduzierung der Plättchenadhäsivität in den heparinisierten Blutproben nach Haemacel eventuell durch eine Sequestration der Plättchen bedingt ist, wie dies von HAVERS, BORSTEDDE und BREUER angenommen wird, läßt sich aus unseren Versuchen nicht beantworten. Diesen Autoren fiel nach Infusion von 500 - 1000 ml Haemacel ein sofort einsetzender Thrombozytenabfall im Blut auf, der durch einen Verdünnungseffekt nicht zu erklären war. Dieser Effekt trat bei 7 Patienten auf und hatte sich nach 24 Stunden wieder normalisiert (17).

In den Citratblutversuchen fanden wir nach Gabe von Haemacel keine Abweichung vom normalen Aggregationsverlauf. Das entspricht den Befunden anderer Autoren, die die elektrophoretische Mobilität der Thrombozyten als Ausdruck einer normalen Adhäsivität in vitro und in vivo maßen. Diese blieb unter Haemacel unverändert (23). FISCHER fand nach Infusion von 500 ml Haemacel an 6 gesunden Probanden auch keine veränderte Plättchenadhäsivität in Gegenwart von ADP in vitro. Lediglich bei der Prüfung der Aggregabilität nach BORN erschien die Phase der Desaggregation gegenüber der Norm etwas verzögert (24).

Das den Gelatinepräparaten nachgesagte neutrale Verhalten auf die Blutgerinnung kann von uns bezüglich der Citratblutversuche bestätigt werden. Hier wurde die Plättchenaggregation nach 4 und nach 9 Stunden nicht wesentlich durch die getesteten Gelatinepräparate beeinflusst. In den Heparinblutversuchen kam es jedoch neben dem bereits erwähnten aggregationshemmenden Effekt des Haemaccels in Blutproben mit primär hoher Aggregationsneigung unter Gelifundol zu einer gering gestiegenen Aggregation nach etwa 5 Stunden, die nach 10 Stunden nicht mehr nachweisbar war (vergl. Abb. 21). Andere Autoren, die eine signifikante Beschleunigung des Gerinnselaufbaus (verkürzte K-Zeit im TEG) und der Aktivblutgerinnung (verkürzte R-Zeit im TEG) nach Infusion von 1000 ml Gelifundol bei Patientinnen mit mittelschweren uterinen Blutungen beobachteten, halten es für ausgeschlossen, daß der K-Zeit- und R-Zeit-

Hämostyptische Effekt des Gelifundols durch Plättchenveränderungen zustande komme. Sie fanden jedoch nach Zusatz von Gelatine zu Blut in vitro - wie wir - Veränderungen der normalen Plättchen, die sich nach 6 Stunden weitgehend zurückgebildet hatten. Über die Art dieser Veränderungen machten die Autoren keine Aussage (23).

Es bleibt die Frage offen, warum die getesteten kolloidalen Plasmaersatzstoffe in den Heparinblutproben eine andere und weitaus stärkere Wirkung zeigten als in den Blutproben, die mittels Natriumcitrat anticoaguliert worden waren. Wie schon oben erwähnt, wäre es denkbar, daß kolloidale Substanzen je nach dem Zustand der Thrombozytenoberfläche aggregierend oder desaggregierend wirken. Diese Oberfläche erfährt jedoch unter Heparin andere Veränderungen als nach Citrat-Anticoagulation und dementsprechend unterscheiden sich im elektronenmikroskopischen Befund auch die Plättchenaggregate (28). Hinweis auf eine stärkere Beeinträchtigung der Thrombozytenfunktion nach Anwendung von Heparin könnte auch der folgende Befund sein: in einer Untersuchung über die günstigste Wirkung von Anticoagulantien auf die Überlebenszeit und die Weiterzirkulation von Cr^{51} -markierten Plättchen nach Infusion autologer Thrombozyten war der ACD - Puffer dem Heparin überlegen (29).

Endotoxin, dessen Wirkung auf die Thrombozytenaggregation in Citratblut untersucht wurde, zeigte nach 9 Stunden einen sehr starken aggregationshemmenden Effekt. Im Gegensatz zu diesem Befund kommt es jedoch in vivo unter Endotoxineinwirkung zu einer gesteigerten Plättchenaggregation und zum Verschwinden der Thrombozyten aus der Zirkulation, wie Untersuchungen über den Endotoxinschock gezeigt haben. Nach LASCH, RODRIGUEZ-ERDMANN und KRECKE werden die Plättchen dabei sowohl quantitativ wie qualitativ verändert: unter Verminderung ihres energetischen Potentials kommt es zum partiellen Austritt der Thrombozytenfaktoren 1 und 3 aus den Plättchen (34, 36). GROSS, LÖHR und WALLER fanden eine aufgehobene Retraktionsfähigkeit in Abhängigkeit von der Hemmung der ATP - liefernden Reaktionen der Glykolyse (31). Ähnliche Befunde wurden von MÜRER, HELLEM und ROZENBERG erhoben, die die Energieproduktion der Mitochondrien und die Glykolyse blockierten. Als Folge beobachteten sie eine verminderte Haftfähigkeit und Aggregations-tendenz der Thrombozyten (32).

Eine signifikante Veränderung der Plättchenaggregation durch Histamin konnte mit der verwendeten Methode nicht nachgewiesen werden. NIKULIN berichtet, daß es ihm in vitro gelungen sei, die Agglutinationsneigung einer Thrombozytensuspension durch Histamin zu erhöhen (33). SWANK konnte nach Zugabe von gleichen Mengen ADP und Histamin zu heparinisiertem Vollblut nach 1 Minute einen maximalen Siebungsdruck (SFP) von 150 mm Hg messen (der erste Zeitpunkt unserer Messungen lag bei 5 Stunden). Der Effekt war kaum gegenüber dem von bloßer ADP - Zugabe gesteigert. Demnach scheint der Histamineffekt von der Anwesenheit des ADP im System abzuhängen. Bei Verwendung von Natriumcitrat - Vollblut (wie in unseren Versuchen) wurden die beschriebenen Wirkungen teilweise blockiert (12, 35).

Z U S A M M E N F A S S U N G

Es wurde der Einfluß der Plasmaersatzstoffe Macrodex 6 %, Rheomacrodex 10 %, Haemaccel 3,5 % und Gelifundol 5,6 % auf die Thrombozytenaggregation in Citrat - und Heparinblut nach 4 - 5 Stunden und 8 - 10 Stunden untersucht. Es handelte sich um in - vitro - Versuche mit dem Vollblut gesunder jugendlicher Probanden. Die Thrombozytenaggregation in Citratblut verlief langsam kontinuierlich ansteigend, während es in Heparinblut zunächst zu einem schnellen Anstieg nach 4 - 5 Stunden kam, dem eine partielle Desaggregation bis zur 10. Stunde folgte.

Rheomacrodex steigerte im Citratblut nach 4 Stunden die Thrombozytenaggregation um etwa 15 %. Um den gleichen Betrag nahm die Plättchenaggregation 5 Stunden nach Zugabe von Gelifundol zu Heparinblut zu. Eine maximale Senkung der Aggregation durch Haemaccel um 55 % und Rheomacrodex um 26 % wurde in heparinisierten Blutproben mit erhöhter Aggregationsneigung nach 4 Stunden beobachtet. Eine Beeinflussung der Thrombozytenaggregation durch die getesteten Plasmaersatzstoffe war nur in den ersten 4 - 5 Stunden und nicht mehr nach 8 - 10 Stunden nachweisbar. Ein wesentlicher Einfluß der Kolloide auf Blutproben mit relativ langsam zunehmender Aggregation konnte bis auf 2 Ausnahmen nicht nachgewiesen werden.

Wegen des günstigen Effektes von Haemaccel und Rheomacrodex 10 % auf die Aggregation der Thrombozyten in Heparinblut bietet sich somit die Verwendung dieser Substanzen in der extrakorporalen Zirkulation an.

A N H A N G : andere M E T H O D E N

Im folgenden seien einige andere Methoden zur Erfassung von Thrombozytenaggregaten in Blutproben erwähnt.

1) HELLEME'sche Methode zur Bestimmung der Thrombozytenadhäsivität in vitro (1960): es werden die Thrombozyten in 1 ml Citrat - Venenblut gezählt, das mittels einer motorgetriebenen Glasspritze mit gleicher Geschwindigkeit einmal mit und einmal ohne Zwischenschaltung eines Filters, das 5 g Glaskügelchen enthält, entnommen wird. Die Kontaktzeit beträgt 24,5 Sekunden. Die 1 ml - Blutproben werden mit 19 ml 1 %-igem Ammoniumoxalat verdünnt. Etwa 1000 Thrombozyten zählt man in jeder der beiden Kammern. Die Zahl der in dem Filter zurückgehaltenen Thrombozyten, die durch die Differenz der beiden Zählungen gegeben ist, wird als Anzahl der adhäsiven Thrombozyten gewertet. Man gibt sie in % der im venösen Blut gezählten Thrombozyten an (10).

2) Thrombozytenagglutinationstest nach BREDDIN :

Die venöse Blutentnahme erfolgt in Polystyrol - Plastikreagenzröhrchen. Dann wartet man die Spontansedimentation der Erythrozyten nach 30 bis 60 Minuten ab. Durch langsame Rotation des thrombozytenhaltigen Plasmas bei konstanter Temperatur provoziert man die Aggregation. Anschließend wird das Serum auf einen Objektträger aus Plastikmaterial überschichtet, fixiert, gefärbt und an der Luft getrocknet. Den mikroskopischen Befund teilt man in 5 Stufen ein:

Stufe 1 + 2: wenig Aggregate und Agglutinate bei unverminderter Thrombozytenzahl

Stufe 3 + 4: mehr Aggregate und Agglutinate

Stufe 5 : ausschließlich Agglutinate

3) Turbidimetrische Methode nach BORN :

Es wird die Thrombozytenaggregation nach Zugabe von ADP photometrisch gemessen. Der Abfall der optischen Dichte von thrombozytenreichem Citratplasma während der ersten 60 Sekunden nach der Zugabe von ADP, ausgedrückt in % der anfänglichen optischen Dichte, gilt als Index für die Zahl der aggregierten Thrombozyten.

Eine kritische Untersuchung dieser Methode durch BORN und

HUME 1967 zeigt, daß die Anstiegsgeschwindigkeit, in der die Lichtdurchlässigkeit zunimmt, nicht vom Ausmaß der entstandenen kleineren Aggregate, sondern vom Ausmaß der aus den kleineren Aggregaten entstandenen großen herrührt. Darüber hinaus wird eine hohe Anstiegsgeschwindigkeit viel mehr durch die Kontraktion der Aggregate als durch die Aggregatbildung selbst hervorgerufen (11).

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1 GRUBER U.F. - "Blutersatz" Zitat Seite 52, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1968.
- 2 KLINNER W., BORST H.G., SEBENING F., SCHAUDIG A. - "Chirurgie am offenen Herzen" Forum cardiologicum 11 (1968).
- 3 SCHNORRER M. et ALII - "On the importance of heparin in the extracorporal circulation" Thoraxchirurgie 15, 210 - 217 (1967).
- 4 SWANK R.L. - "Adhesiveness of platelets and leukocytes during acute exsanguination" Amer.Journ.Physiol. 202, 262 - 264 (1961).
- 5 STAFF of Pharmacia AB - "Blood Flow Improvement - Rheo-macrodex" Uppsala 1968.
- 6 SWANK R.L., HISSEN W., FELLMAN J.H. - "5 - Hydroxytryptamine in acute hypotensive shock" Amer.Journ.Physiol. 207 215 - 222 (1964).
- 7 SAKAI Y., LEWIS J.F. - "A study of platelet aggregation and blood velocity in vitro" Journ. of Thoracic Cardiovascular Surgery 49, 982 - 993 (1965).
- 8 SCHÜTTERLE G., DIEKER P., KNORPP K. - "Plasma Substitutes and the Artificial Kidney" Bibl.haemat. 33, 581 - 586 (1969).
- 9 LARGIADER F. - "Handling of the Transplant" Chapter 8, S. 152 - 180 in 'Organtransplantation' Second edition, Georg Thieme Verlag Stuttgart 1970.
- 10 BENETT P.N., DHALL D.P., MAC KENZIE F.N., MATHESON N.A. - "Effects of dextran infusion on the adhesiveness of human blood - platelets" Lancet 2, 1001 (1966).
- 11 BORN G.V.R., HUME M. - "Effect of the numbers and size of platelet aggregates on the optical density of plasma" Nature 215, 1027 - 1029 (1967).
- 12 SWANK R.L., FELLMAN J.H. - "Blood Cell Aggregation and Biological Agents" Bibl.anat. 9, 98 - 103 (1967).
- 13 NEUHOF H. - "Die vergleichend - quantitative Erfassung von Microemboli in Blutproben" Klin.Wochenschrift 12, 618 - 621 (1967).
- 14 HIRSCH H., BENEICKE U., POPESCOVIC D. - "Die Entstehung von Thrombozytenaggregaten durch Asphyxie beim Hund"

- Pflügers Archiv 281,201 -206 (1964).
- 15 EWALD R.A.,EICHELBERGER J.W.Jr.,YOUNG A.A.,WEISS H.J.,
CROSBY W.H. - "The effect of dextran on platelet factor 3
activity: in vitro and in vivo studies" Transfusion 5,
109 - 119 (1965).
 - 16 DHALL D.P.,BENETT P.N. - "Effects of Dextran on Human
Platelets" Bibl.anat. 9,295 - 299 (1967).
 - 17 BIERSTEDT P. - "Beeinflussung der Blutgerinnung durch
Plasmaersatzpräparate" aus 'Plasmaersatzpräparate auf
Gelatinebasis',Symposium in Hamburg am 12.Jan.1968 -
herausgegeben von Karl Horatz im Georg Thieme Verlag
Stuttgart 1968.
 - 18 MÜLLER K.H. - "Comparative Studies on the Influence of
Plasma Substitutes on Coagulation in vivo" Bibl. haemat.
34,434 -451 (1969).
 - 19 CRONBERG S.,ROBERTSON B.,NILSSON I.M.,NILEHN J.E. -
"Suppressive effect of dextran on platelet adhesiveness"
Thromb.Diath.Haem. 16,384 - 393 (1966).
 - 20 VINAZZER H. - "Die postoperative Thrombosebereitschaft"
Linz,Schattauer Verlag 1969).
 - 21 VINAZZER H. - Diskussionsbemerkung anlässlich der Tagung
der 'Deutschen Gesellschaft für Bluttransfusion'
Gießen, 8. - 11.April 1970.
 - 22 LUTZ H. - Diskussionsbemerkung anlässlich der Tagung der
'Deutschen Gesellschaft für Bluttransfusion' ,Gießen,
8. - 11.April 1970.
 - 23 POLIWODA H. - "The effect of Plasma Expanders on the
Formation of Platelet - Rich Agglutination Thrombi"
Bibl.haemat. 34,466 - 471 (1969).
 - 24 FISCHER M. - "Ein Plasma - Expander auf Gelatine - Basis
und sein Effekt auf Blutgerinnung,Fibrinolyse und Funktion
der Thrombozyten" Arzneimittelforschung 17,1129 -1131 (1967)
 - 25 LUTZ H. - "Animal Experiments on the effect of Colloidal
Plasma Substitutes in Hemorrhagic Shock in the Dog"
Bibl.haemat. 33,232 - 247 (1969).
 - 26 LUDWIG H.,STIEBLER H.J.,WOLF B. - "Veränderung einzelner
hämostaseologischer Parameter während der Infusion von

LEBENS LAUF

Ich wurde am 9. März 1944 als Sohn des Arztes Egbert Wille und seiner Frau Hedwig Wille, geborene Gerber in Schlüchtern (Hessen) geboren.

1963 legte ich das Abitur an der Wilhelm Filchner Schule in Wolfhagen ab und begann im gleichen Jahr das Studium der Medizin an der Universität Tübingen. Dort absolvierte ich 1966 das Physikum und wechselte zum Weiterstudium des 1. klinischen Semesters an die Medizinische Akademie nach Düsseldorf über. Die folgenden klinischen Semester studierte ich an der Justus Liebig Universität Gießen, an der ich 1969 das Staatsexamen ablegte. Die Medizinalassistentenzeit leistete ich an der Medizinischen Klinik in Gießen, der 1. Chirurgischen Klinik des Stadtkrankenhauses Kassel und in einer ärztlichen Allgemeinpraxis ab. Ich erhielt die Approbation als Arzt am 6. November 1970. Seit dem 1. November 1970 arbeite ich als wissenschaftlicher Assistent in der Abteilung für Herz - und Kreislaufphysiologie des Physiologischen Institutes der Universität Tübingen mit.

